

学位論文内容の要旨

Antitumour effect of electrochemotherapy with bleomycin on human prostate cancer xenograft.

(ヒト前立腺癌異種移植片に対するブレオマイシンを用いた電気化学療法 of 抗腫瘍効果)

Teiichiro Ueki

植木 貞一郎

Urology

Yokohama City University Graduate School of Medicine

横浜市立大学 大学院医学研究科 医科学専攻 泌尿器病態学

(Doctoral Supervisor : Yoshinobu Kubota, Professor)

(指導教員 : 窪田 吉信 教授)

学位論文内容の要旨

Antitumour effect of electrochemotherapy with bleomycin on human prostate cancer xenograft.

(ヒト前立腺癌異種移植片に対するブレオマイシンを用いた電気化学療法抗腫瘍効果)

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2008.07793.x/abstract>

1. 目的

治療に抵抗する去勢抵抗性前立腺癌に対する新規治療法の開発を目的とし 電気穿孔法を用いてブレオマイシンによる電気化学療法を行いその効果を検討した。

2. 対象と方法

ヒト前立腺癌細胞株である PC-3 細胞を培養し、6 週齢のヌードマウス (Balb/c, オス) の腰部に皮下注射にて移植し、移植後 10 日に形成される直径約 1cm の腫瘍結節を実験に用いた。ブレオマイシンは生理食塩水にて 0.5mg / ml の濃度に調製した。電気穿孔法 (EP) は BTX エレクトロユニット (BTX, a Division of genetronics Inc, San Diego, CA, USA) によって施行した。1 対の円盤状電極を使用し パルス持続時間 1 ms で 10 回の投与を行った。まず実験 1 として移植腫瘍に対してブレオマイシン濃度を固定し様々な電圧 (100, 200, 300, 400, 500V/cm) で処置し、至適な治療電圧を 500V/cm に決定した。次に実験 2 としてブレオマイシンの至適な投与量を決定するため、パルス電圧 500V/cm の条件でブレオマイシンの投与量を様々に変化させて検討したところ至適用量は 25mg/kg 皮下注と決定された。次に実験 3 として前述の実験で決定された至適電圧 500V/cm とブレオマイシンの至適用量 25mg/kg を用いて PC-3 細胞移植腫瘍に対するブレオマイシンによる EP 療法の抗腫瘍効果を検討した。腰部に PC-3 細胞を移植し腫瘍を形成させたヌードマウス 21 匹をブレオマイシン投与の有無と EP 療法施行の有無により 4 つのグループに分けた。(B(+))E(+):ブレオマイシン投与後に EP 施行。B(+))E(-):ブレオマイシン投与のみ。B(-))E(+):生理食塩水投与後に EP を施行。B(-))E(-):生理食塩水投与のみ。)

EP 施行日より 30 日後までの間 腫瘍径を 3 日ごとに計測し、相対的腫瘍体積の平均値をプロットした。また各グループにおいて腫瘍のアポトーシスの有無と程度を評価検討す

るために、同様の治療を行なった別のマウスを用いて治療後 12 時間後と 24 時間後の腫瘍を取り出し アポトーシス指数 (A I) として表し比較した。A I と各群の結果は student-t test により検定した。

3. 結果と考察

予備実験により治療に至適なブレオマイシン投与量は 25mg/kg , 至適なパルス電圧は 500V/cm と決定された。ブレオマイシン投与の有無と EP 療法施行の有無によりわけられた 4 つのグループでは、ブレオマイシン投与と EP 療法を両者行った B(+)E(+)群に著明な抗腫瘍効果が認められた。また各グループにおいて腫瘍内のアポトーシスの誘導状況を検討したところ B(+)E(+)群に著しいアポトーシス誘導が認められた。縮小消失した腫瘍はその後観察終了までの 30 日間にわたり再発することはなく、ブレオマイシンと電気穿孔法を併用した電気化学療法が悪性度の高い前立腺癌に対して著しい有効性を示すことが確認された。

電気化学療法では電気パルスにより細胞膜に可逆性の孔形成が生じ ブレオマイシンやシスプラチンなどの親水性の薬物の細胞膜透過性が高まる。In vitro での検討では電気パルスの処置によりブレオマイシンの細胞内濃度は 300 から 700 倍にまで上昇し 抗腫瘍効果は数千倍に達するとされる。細胞内のブレオマイシンは DNA に結合してこれを切断し、アポトーシスによる細胞死を引き起こす。本実験においてブレオマイシンによる EP 療法はヒト前立腺がん細胞 PC-3 の移植片の腫瘍増殖をほぼ完全に抑制することができることが明らかになった。

また、EP による細胞膜透過性の亢進は 薬物の細胞内移行の効率を高めるため、薬剤の総投与量を減少させることが期待できる。用量依存性により肺線維症を発症するブレオマイシンのように最大投与量が存在する薬物をより長期に使用することが可能となることが考えられる。今後の電気化学療法の発展により 従来の治療法では治療困難な深部の固形腫瘍も治療可能になると考えられた。

4. 結論

本実験においてブレオマイシンによる EP 療法はヒト前立腺がん細胞 PC-3 の移植片の腫瘍増殖をほぼ完全に抑制することができることが明らかになった。ブレオマイシンによる EP 療法はホルモン療法や放射線療法等の従来の治療法に抵抗を示す高悪性度の腫瘍を含む限局性前立腺癌の治療に有用であると考えられた。

論文目録

I 原著論文

Ueki T, Uemura H, Nagashima Y, Ohta S, Ishiguro H, Kubota Y : Antitumour effect of electrochemotherapy with bleomycin on human prostate cancer xenograft. *British J Urol Int*;102: 1467-71, 2008

II 副論文

なし

III 参考論文

なし